

НИКОЛАЕВ АНТОН ЕВГЕНЬЕВИЧ

**СИНТЕЗ И ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ПИРИМИДИНОФАНОВ,
СОДЕРЖАЩИХ АТОМЫ АЗОТА ИЛИ СЕРЫ
В СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ МОСТИКАХ**

02.00.03 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Казань – 2008



Работа выполнена в лаборатории Химико-биологических исследований Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук

Научный руководитель: кандидат химических наук, доцент
Семенов Вячеслав Энгельсович

Официальные оппоненты: член-корреспондент РАН,
доктор химических наук, профессор
Миронов Владимир Федорович
доктор химических наук, профессор
Чмутова Галина Алексеевна

Ведущая организация: Институт органической химии УНЦ РАН

Защита диссертации состоится «28» января 2009 года в 14 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д 022.005.01 при Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук по адресу: 420088, г. Казань, ул. Арбузова, 8, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН

Отзывы на автореферат просим присылать по адресу: 420088, г. Казань, ул. Арбузова, 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН.

Автореферат разослан «24» ноября 2008 года.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000439039

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Муратова Р.Г.

Актуальность работы. Производные пириимидина проявляют исключительно широкий спектр биологической активности – препараты на их основе применяются в разных областях медицины: как антимикробные (хлоридин, триметоприм), противовоспалительные (метилурацил), антивирусные (азидовудин, дидезоксицитидин), гипотензивные (урапидил, миноксидил), противораковые (фторурацил, фторафур) препараты. В ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН создан высокоэффективный противоопухолевый и иммуномодулирующий препарат ксимедон. Кроме того, пириимидиновый цикл является составной частью всех нуклеотидных оснований, а нуклеотидные основания помимо того, что являются строительными блоками ДНК и РНК, входят в состав соединений, обслуживающих сотни ферментативных реакций как в качестве коферментов, так и в качестве источника энергии. Мы предположили, что введение в структуру макроцикла пириимидинового фрагмента может придать соединению совершенно новые свойства и, в частности, биологическую активность.

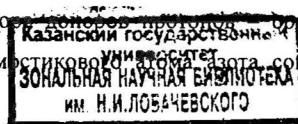
Достаточно подробно исследованы макроциклы, содержащие нуклеотидные основания – аденин или урацил, которые соединены друг с другом или сами на себя рибозидфосфатными мостиками (аденозиндифосфатрибоза и многочисленные синтетические аналоги). Еще один в настоящее время интенсивно исследуемый тип макроциклов, содержащих производные нуклеотидных оснований – внутримолекулярно циклизованные нуклеотиды. Другой тип пириимидинсодержащих макроциклов, в которых пириимидиновые циклы соединены углеводородными мостиками – полиметиленовыми или ксилиленовыми – по аналогии с циклофанами получил название «пириимидинофаны». Пириимидинофаны представляют собой достаточно известный в синтетическом плане класс макроциклов. Однако, за исключением единичных публикаций, практически отсутствуют данные о структуре пириимидинофанов и их свойствах, например, биологической активности. На наш взгляд, пириимидинофаны являются перспективными биологически активными макроциклическими соединениями, способными выступить в роли неспецифического фрагмента, усиливающего действие специфического фармакофора и даже придающего ему новую направленность. Таким образом могут быть получены новые лекарственные средства.

Между тем, в молекулах описанных в настоящее время в литературе пириимидинофанов практически отсутствуют возможности для дальнейшей функционализации. Введение в состав углеводородных соединительных мостиков

пиримидинофанов атомов азота или серы позволяет модифицировать структуру макроциклических соединений: в дальнейшем гетероатом может быть переведен в группировку, способную выступить в качестве специфического фармакофора, например, ониевую или сульфониевую. Также перспективными представляются структурные исследования подобных соединений, поскольку гетероатом в составе соединительных мостиков может выступать в роли дополнительного фактора, стабилизирующего определенный набор конформаций, тем самым ограничивая конформационную лабильность макроциклов. Кроме того, пиримидинофаны с гетероатомами в соединительных мостиках представляют интерес как лиганды для комплексообразования с нейтральными и заряженными субстратами и как объекты изучения супрамолекулярной химии.

Целью данной работы является синтез макроциклических соединений на основе производных пиримидина – пиримидинофанов, содержащих гетероатомы в соединительных мостиках, а именно атомы азота, серы и кислорода. Варьирование длины и конформационной лабильности соединительных мостиков, а также заместителей при гетероатоме позволяет оценить влияние различных факторов на структуру и свойства синтезированных макроциклов. Целью данной работы также является определение биологической активности, и, в частности, антимикробной активности некоторых из синтезированных пиримидинофанов.

Научная новизна. Разработаны методы синтеза пиримидинофанов различного строения с гетероатомами в составе соединительных мостиков. Впервые синтезирован ряд макроциклических соединений, содержащих один или два урациловых фрагмента, а также атомы азота, серы и кислорода в соединительных полиметиленовых или ксилиленовых мостиках. В составе целевых соединений варьировались заместители при C^5 и C^6 пиримидиновых циклов, гетероатомы в составе соединительных мостиков и заместители при гетероатомах. Методами РСА, ЯМР и МДМ установлено, что как в кристалле, так и в растворе [9]- и [11](1,3)пиримидинофаны находятся в жесткой «свернутой» конформации, а [13](1,3)пиримидинофаны – в «развернутой», с удаленными друг от друга структурными элементами. Изомерным двухфрагментным пиримидинофанам приписана определенная структура на основании данных РСА и МДМ. Обнаружена зависимость конформационного состояния однофрагментных пиримидинофанов от присутствия в растворе доноров протонов. Протонирование мостикового атома азота сопровождается



структурными переходами. Эти переходы обратимы – при добавлении более сильного основания макроцикл возвращается в исходное состояние. Различия в конформационном состоянии пиримидинофанов отражаются на их основных характеристиках. В результате взаимодействия 1,3-бис(3-бромметилбензил)-5-бромурацила с *m*-метоксибензиламином выделен макроциклический продукт, содержащий 5-гидроксигидантоиновый фрагмент, тогда как в литературе описано лишь превращение 5-бромурацилового фрагмента в гидантоиновый.

Некоторые из синтезированных макроциклов проявляют высокую антибактериальную и противогрибковую активность.

Синтезировано и охарактеризовано 97 новых соединений – производных 5- и 6-замещенных урацилов, хиназолин-2,4-диона, аллоксазина, 5-метилизотианурата, 5,6-дигидро-6-метилурацила и в том числе 70 макроциклических соединений.

Практическая значимость заключается в разработке методов синтеза пиримидинофанов с гетероатомами в соединительных мостиках. Использованный подход позволяет вводить в состав пиримидинофанов различные замещенные урациловые фрагменты, в том числе с конденсированными ароматическими циклами, варьировать длину и конформационную лабильность соединительных мостиков, вводить в состав мостиков атомы N, O или S, облегчающие дальнейшую функционализацию пиримидинофанов, и может использоваться для проведения направленных синтезов макроциклов с целью получения веществ с заданными свойствами. Пиримидинофаны с кватернизованными атомами азота или сульфониевой группировкой обладают высокой антибактериальной активностью по отношению к грам-положительным бактериям и могут найти применение в качестве антибактериальных препаратов. Обнаруженные для некоторых из синтезированных пиримидинофанов обратимые структурные переходы под действием кислот и оснований могут использоваться при создании молекулярных рН-переключаемых устройств.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на итоговых научно-образовательных конференциях студентов КГУ (Казань, Россия, 2004, 2005), итоговых конференциях Казанского научного центра РАН (Россия, Казань, 2005, 2007, 2008), XLIII международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс» (Россия, Новосибирск, 2005), научных конференциях молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КГУ (Россия, Казань, 2006, 2007), Международной конференции студентов, аспирантов и молодых

ученых по фундаментальным наукам "Ломоносов" (Россия, Москва, 2005, 2008), V Всероссийском научном семинаре и Молодежной научной школе «Химия и медицина» (Россия, Уфа, 2005), IV Национальной кристаллохимической конференции (Россия, Черноголовка, 2006), IX научной школе-конференции по органической химии (Россия, Москва, 2006), Всероссийской научной конференции «Современные проблемы органической химии» (Россия, Новосибирск, 2007), Всероссийском симпозиуме «Эффекты среды и процессы комплексообразования в растворах» (Россия, Красноярск, 2007), XXII Международной Чугаевской конференции по координационной химии (Молдова, Кишинев, 2005), Международной конференции по химии гетероциклических соединений (Россия, Москва, 2005), Международной конференции «Органическая химия от Бутлерова и Бейльштейна до современности» (Россия, Санкт-Петербург, 2006), 3 международной конференции «Химия и биологическая активность азотсодержащих гетероциклов», посвященной памяти проф. А.Н. Коста (Россия, Черноголовка, 2006), XXIII Международной Чугаевской конференции по координационной химии (Украина, Одесса, 2007), XVIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Россия, Москва, 2007), XXX International Symposium on macrocyclic chemistry (Германия, Дрезден, 2005), International symposium "Advances in science for drug discovery" (Россия, Москва-Киж-Валаам-Санкт-Петербург, 2005), IVth International symposium "Design and synthesis of supramolecular architecture" (Россия, Казань, 2006), International Symposium on Advanced Science in Organic Chemistry (Украина, Судак, 2006), 1st European Chemistry Congress (Венгрия, Будапешт, 2006), 10th Session of the V.A. Fock Meeting on quantum and computational chemistry. (Россия, Казань, 2006), International Summer School "Supramolecular Systems in Chemistry and Biology" (Россия, Туанце, 2006), International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (Россия, Санкт-Петербург, 2007).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 статей в центральных отечественных и международных журналах, а также тезисы 26 докладов различных конференций и симпозиумов.

Работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН по теме: «Функционализация клешневидных и макроциклических соединений, содержащих N-гетероароматические и карбоциклические фрагменты, с целью придания им практически полезных свойств: растворимости, избирательного связывания, электропроводности, способности

реагировать на внешние физико-химические воздействия» (№ гос. рег. 0120.0503489), при поддержке гранта РФФИ 05-03-32497 «Пиримидиноазациклофаны – pH-зависимые сенсоры» 2005-2006 гг, программ ОХНМ РАН «Химия и физикохимия супрамолекулярных систем и атомных кластеров» и «Биомолекулярная и медицинская химия», программы Президиума РАН «Разработка методов получения химических веществ и создание новых материалов», совместного гранта CRDF и Министерства образования и науки РФ (REC-007).

Объем и структура работы. Работа выполнена на 242 страницах, содержит 4 таблицы, 41 рисунок и библиографию, включающую 218 наименований.

Диссертационная работа состоит из введения, списка использованных сокращений, 5 глав, посвященных методам синтеза пиримидинофанов и исследованию их свойств, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. В 1 главе приведены литературные данные по теме работы, во 2 – представлены методы синтеза пиримидинофанов различной структуры, в 3 главе описываются результаты исследования структуры синтезированных соединений различными физико-химическими методами, 4 глава посвящена изучению химических свойств пиримидинофанов, 5 глава – экспериментальная часть.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез пиримидинофанов, содержащих гетероатомы в соединительных мостиках

1.1 Синтез исходных соединений – 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилов и их производных

В качестве исходных соединений для синтеза целевых пиримидинофанов были выбраны бис- и моно(ω-галогеналкил)урацилы. Заменой концевых атомов галогенов в алкильных цепочках подходящим агентом – амином в случае введения азота и сульфидом в случае введения серы – могут быть получены макроциклы разнообразного строения с соответствующими гетероатомами в мостиках.

В работе осуществлен синтез ряда ранее не описанных 1,3-бис(ω-бромалкил)-урацилов (**1a-з**) взаимодействием 8-10 кратного избытка дибромалкана с предварительно полученной динатриевой солью соответствующего урацила в ДМФА при 60-70°C (схема 1). Использовались как незамещенный урацил, так и его 5- и 6-замещенные производные. Синтез соединения (**2**) (схема 1) проводили в сходных усло-

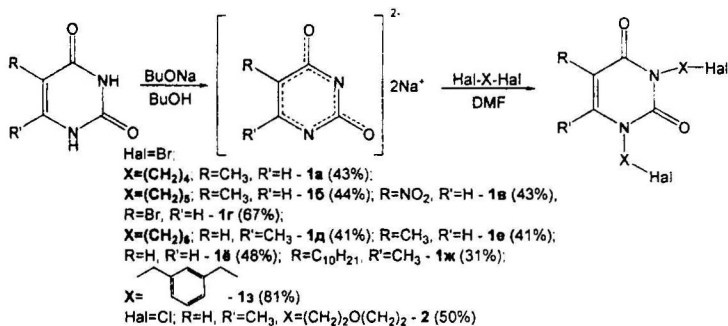


Схема 1

виях с добавлением каталитических количеств иодида натрия для ускорения протекания реакции. Выходы соединений (1,2) колеблются от 30% до 80%. Помимо 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилов в результате реакции также образуются 1- и 3-моно(ω-бромалкил)урацилы, а также разнообразные олигомерные продукты. Разделение этих сложных смесей осуществляли колоночной хроматографией.

Аналогично были проалкилированы и производные урацила с конденсированной ароматической системой. Так, были получены 1,3-бис(ω-бромалкил)хиназолин-2,4-дионы (3а-в) и 1,3-бис(5-бромпентил)аллоксазин (4) (схема 2).

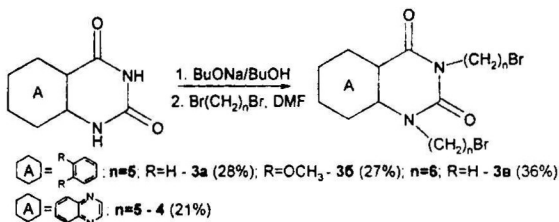


Схема 2

Попытка получить 1,3-бис(5-бромпентил)-5,6-дигидро-6-метилурацил (5) по аналогичной схеме оказалась безуспешной, по-видимому, из-за нестабильности динатриевой соли. В несколько измененных условиях – при использовании гидрида натрия в ДМФА – соединение (5) было синтезировано с 44% выходом (схема 3).

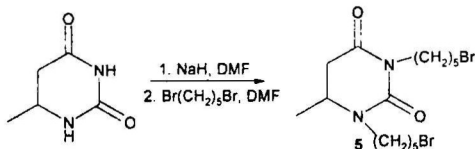


Схема 3

1.2 Синтез макроциклов, содержащих один пиримидиновый фрагмент

1.2.1 Получение пиримидинофанов с атомом азота в соединительном мостике

В результате реакции 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилов с первичными аминами при соотношении реагентов 1:1 или при небольшом избытке амина были получены пиримидинофаны (6-14) (схема 4).

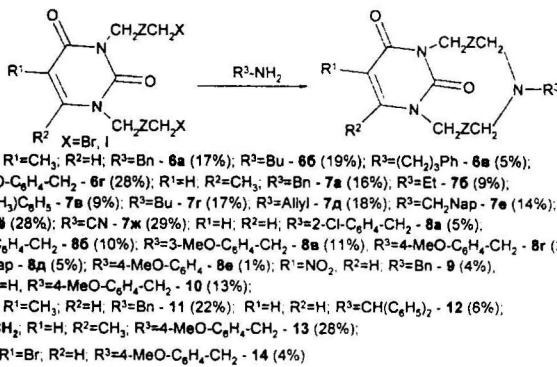


Схема 4

Циклизацию проводили в CH_3CN или n -BuOH в присутствии K_2CO_3 при 80-100 °С при соотношении реагентов от 1:1 до 1:2. Синтез пиримидинофанов (**7b**) и (**8e**) проводили в ДМФА в присутствии NaN. Макроцикл (**7ж**) был получен в результате реакции 1,3-бис(5-бромпентил)-6-метилурацила с Na_2NCN в CH_3CN .

Образование макроциклов четко фиксируется в спектрах ЯМР 1H – структура сигналов метиленовых групп при атомах N пиримидинового цикла претерпевает драматические изменения, и исчезает мультиплет в области $\delta=3.40$ м.д., соответствующий фрагменту CH_2Br (рис. 1). В масс-спектрах всех синтезированных пиримидинофанов наблюдаются пики молекулярных ионов, значения m/z для $[M]^+$ прекрасно согласуются с вычисленными значениями. В некоторых случаях были получены кристаллы, пригодные для проведения рентгеноструктурного анализа (РСА), полученные результаты подтвердили правильность структуры, приписанной синтезированным соединениям (рис. 2а,б). Используемый подход позволяет ввести в состав пиримидинофанов помимо урацилового фрагмента его производные с конденсированной ароматической системой – например, хиназолин-2,4-дион и аллоксазин. Так, взаимодействием соединений (**3а-в**) с бензиламином или 1-нафтилметиламином синтезированы пиримидинофаны (**15-16**) (схема 5), а в результате реакции соединения (**4**) с бензиламином получен макроцикл (**17**) (схема 6). Структура

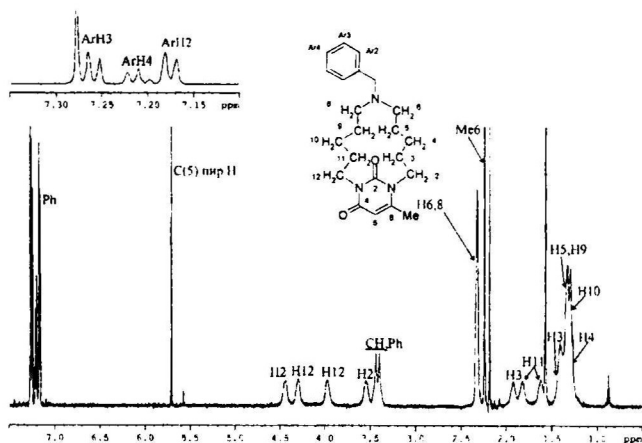


Рис. 1. ^1H ЯМР спектр в CDCl_3 макроцикла (7а).

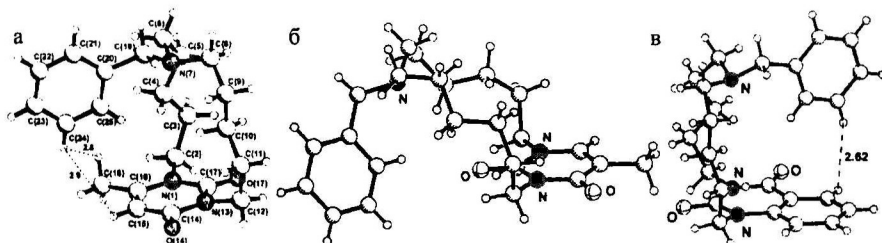


Рис. 2. Геометрия молекулы (а) (7а), (б) (11), (в) (15а) в кристалле

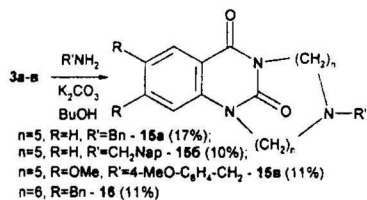


Схема 5

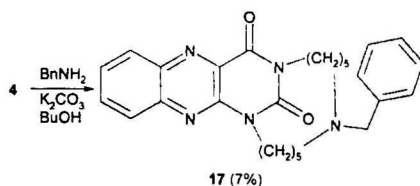


Схема 6

полученных соединений доказана комплексом физико-химических методов исследования, в том числе данными РСА (рис. 2в).

Вместо пиримидинового фрагмента в состав макроциклов были введены и другие *мета*-диазагетероциклы. Так, взаимодействием 1,3-бис(5-бромпентил)-5-метилизотианурата (18) с бензиламином получен макроцикл (19) (схема 7), а исходя из соединения (5) был синтезирован макроцикл (20), содержащий неароматический гетероциклический фрагмент (схема 8).

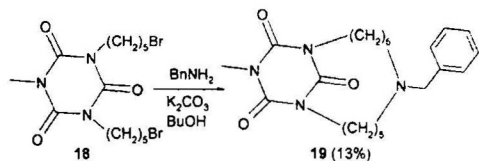


Схема 7

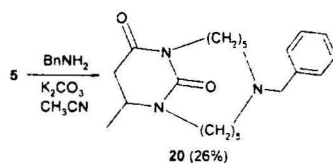


Схема 8

Выходы целевых макроциклов невысоки, и все попытки их увеличения (проведение реакции циклизации в условиях разбавления, добавление в реакционную среду солей переходных металлов, варьирование растворителей) не дали заметных результатов. При проведении реакции циклизации в ионной жидкости пиримидинофан (7r) был получен с выходом всего лишь 3% (схема 9), а пиримидинофан (7з) в условиях межфазного катализа был синтезирован с выходом 11% (схема 10).

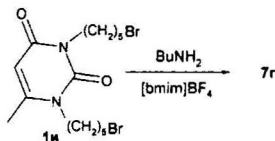


Схема 9

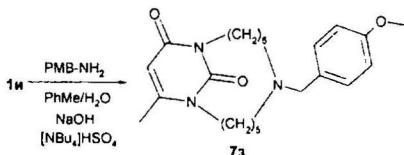


Схема 10

В реакциях циклизации соединений (1-5,18) аминами выделенные макроциклы являются минорными продуктами. Помимо них также образуются 1,3-бис(ω-алкиламиноалкил)урацилы (21) и продукты олигомерного строения (схема 11).

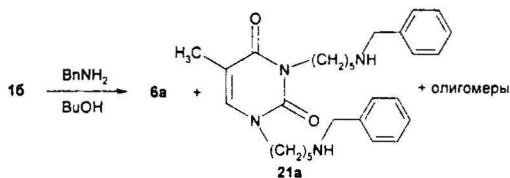


Схема 11

1.2.2 Синтез пиримидинофанов с атомом серы в соединительном мостике

В результате взаимодействия 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилов с Na_2S в ДМФА при 90-100 °C был получен ряд пиримидинофанов (22а-ж) (схема 12) с различной длиной и конформационной лабильностью соединительных мостиков. Урациловый фрагмент в макроцикле может быть заменен на хиназолин-2,4-дионовый (схема 13).

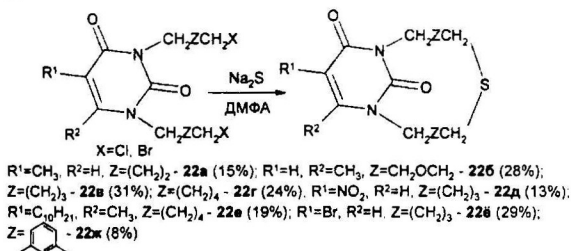


Схема 12

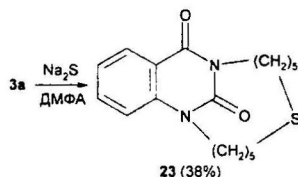
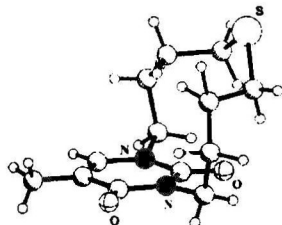


Схема 13

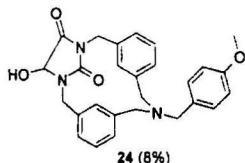
Выходы макроциклов в этих реакциях существенно превышают выходы пиридинофанов с атомом N в мостике. Кроме того, в результате взаимодействия 1,3-бис(4-бромбутил)тимина (**1а**) и 1,3-бис(2-хлорэтоксипентил)-6-метилурацила (**2**) с Na_2S синтезированы пиридинофаны (**22а**) и (**22б**) соответственно, тогда как реакция этих соединений с аминами дает лишь следовые количества пиридинофанов.

Рис. 3. Геометрия молекулы (**22а**) в кристалле

Образование макроциклов подтверждается характерной структурой сигналов в спектрах ЯМР 1H и наличием пиков молекулярных ионов в масс-спектрах, для некоторых соединений удалось выполнить PCA (рис. 3).

1.2.3 Особенности поведения пиридинофанов, содержащих 5-бромурациловый фрагмент

В результате реакции 1,3-бис(3-бромметилбензил)-5-бромурацила (**1з**) с *n*-метоксибензиламином в *n*-бутаноле в присутствии K_2CO_3 и каталитических количеств $[NBu_4]HSO_4$ помимо ожидаемого пиридинофана (**14**) (схема 4) было выделено кристаллическое вещество, которому на основании данных комплекса физико-химических методов исследования была приписана структура макроцикла (**24**), содержащего в своем составе гидросигдантиновый фрагмент.



Были проведены модельные реакции *n*-метоксибензиламина с 1,3-бис(бензил- и пентил)-5-бромурацилами (**25а,б**) (схема 14). Масс-спектрометрический анализ показал, что в этих случаях также образуются продукты трансформации урацилового фраг-

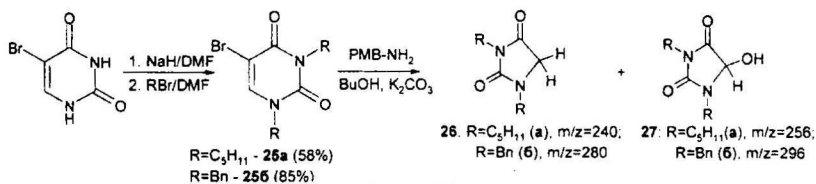


Схема 14

мента – наблюдаются молекулярные пики гидантоинов (**26a,б**) и гидроксигидантоинов (**27a,б**). В литературе описано превращение 5-бром урацилового фрагмента в гидантоиновый, в нашем случае реакция, по-видимому, протекает при участии кислорода воздуха – именно этим может быть объяснено образование продуктов окисления гидантоина. При проведении реакции в инертной атмосфере в реакционной среде не было обнаружено даже следов продуктов трансформации 5-бром урацилового фрагмента. В результате взаимодействия пиримидинофана (**14**) с *n*-метоксибензиламином в условиях синтеза макроцикла (**24**) в масс-спектре реакционной смеси не было зафиксировано следов продуктов превращения 5-бром урацилового фрагмента, на основании чего сделан вывод, что трансформация происходит до образования макроциклического соединения.

1.3 Синтез двухфрагментных пиримидинофанов

1.3.1 Синтез двухфрагментных пиримидинофанов с атомами азота в соединительных мостиках

При взаимодействии 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилов со значительным (десяти- и более кратным) избытком амина практически количественно образуются 1,3-бис(ω-алкиламиноалкил)урацилы (**21б-д**) (схема 15).

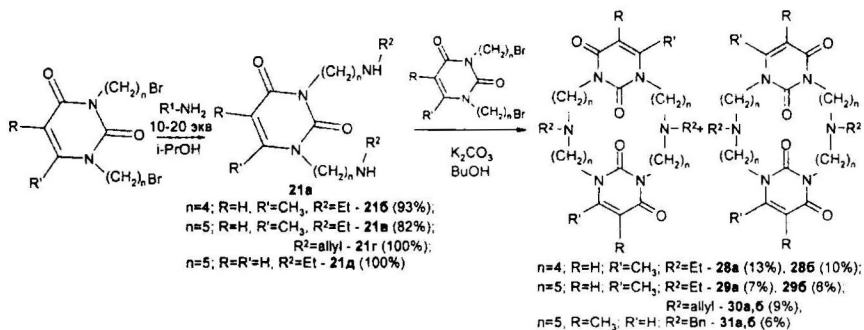


Схема 15

На следующей стадии в результате реакции соединений (21а-д) с исходными 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилами в CH_3CN в присутствии K_2CO_3 были получены макроциклы (28-31) (схема 15).

Макроциклы (28а) и (28б), (29а) и (29б) выделены в индивидуальном виде и охарактеризованы комплексом физико-химических методов исследования как в твердой фазе, так и в растворах. Приписание определенной структуры изомерам (28а) и (28б), (29а) и (29б) было выполнено на основании метода дипольных моментов в растворе и подтверждено данными РСА в кристалле (рис. 4).

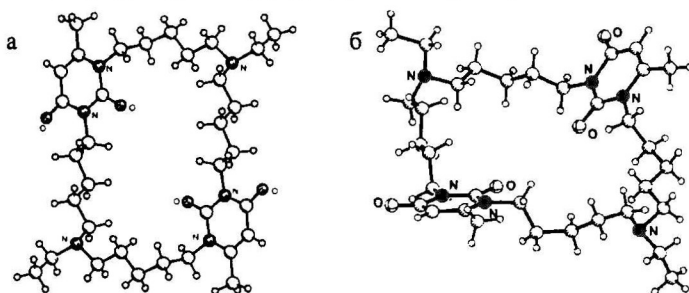


Рис. 4. Геометрия молекулы (а) (29а), (б) (29б) в кристалле.

1.3.2 Синтез пиримидинофанов, содержащих два урациловых фрагмента и атомы серы в соединительных мостиках

По сходной схеме были получены макроциклы с атомами серы в соединительных мостиках. Взаимодействием 1,3-бис(5-бромпентил)-6-метилурацила (1и) с тиомочевинной в CH_3CN была получена тиурониевая соль (32), в результате разложения которой был выделен дитиол (33) (схема 16).

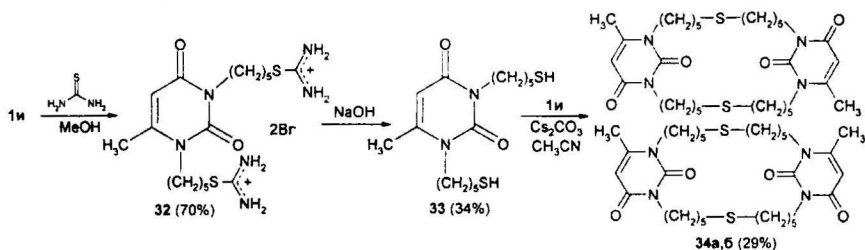


Схема 16

Реакция дитиола (33) с соединением (1и) в CH_3CN в присутствии Cs_2CO_3 привела к смеси изомерных пиримидинофанов (34а,б) (схема 16).

1.4 Синтез пиримидинофанов иного строения

В результате циклизации 1,3-бис(ω-этиламиноалкил)урацилов дибромксиленами были выделены пиримидинофаны (**35a,б**), содержащие один урациловый фрагмент и два атома азота в мостике (схема 17). Реакции проводили в условиях, аналогичных получению двухфрагментных пиримидинофанов (**28-31**).

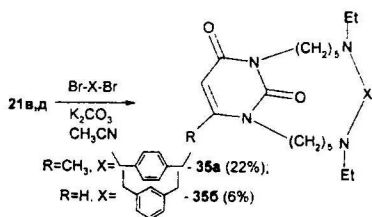


Схема 17

При использовании в качестве исходного соединения 1-(5-бромпентил)-3,6-диметилурацила (**36**) был синтезирован пиримидинофан (**39**) (схема 18).

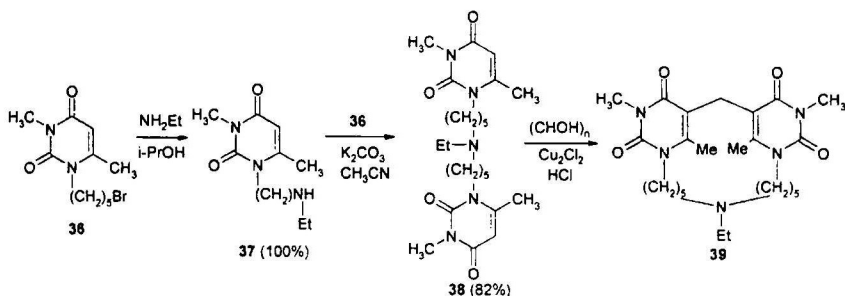


Схема 18

2. Исследование структуры пиримидинофанов

2.1 Структура пиримидинофанов в кристаллах

Согласно данным РСА молекулы макроцикла (**7a**) в кристаллах находятся в «свернутой» конформации с пространственно сближенными ароматическими фрагментами (рис. 2a). Несмотря на «свернутую» конформацию молекулы, а также ортогональность ароматических фрагментов, последние, однако, в достаточной степени сдвинуты друг относительно друга, вследствие чего между ними отсутствуют как π-π, так и С-Н...π взаимодействия. Подобные структурные особенности сохраняются и для других однофрагментных пиримидинофанов с 10 метиленовыми

группами в соединительных мостиках, в том числе и при замене урацилового фрагмента на хиназолин-2,4-дионовый (рис. 2в).

Напротив, пиримидинофан (11) с 12 метиленовыми группами в соединительном мостике имеет «развернутое» строение с удаленными друг от друга фенильным и пиримидиновым фрагментами (рис. 2б).

Однофрагментные пиримидинофаны с атомами S в мостике сохраняют структурные особенности, характерные для макроциклов с мостиковыми атомами N. В принципе, в кристалле геометрия молекулы макроцикла (22а) с мостиком, содержащим 8 метиленовых групп и атом серы (рис. 3), аналогична геометрии пиримидинофанов с более длинным мостиком, состоящим из 10 метиленовых групп и атома азота.

Таким образом, установлено, что конформация однофрагментных пиримидинофанов в кристалле определяется длиной соединительного мостика: в случае мостика, состоящего из 10 метиленовых групп макроциклы находятся в «свернутой» конформации независимо от урацилового фрагмента и заместителя при мостиковом атоме азота, при увеличении же длины цепочки до 12 метиленовых групп происходит изменение конформации на «развернутую».

Для макроциклов с двумя урациловыми фрагментами возможно образование геометрических изомеров, отличающихся друг от друга взаимным расположением карбонильных групп $C^4=O$ при различных пиримидиновых циклах. На рис. 4 представлена геометрия молекул пиримидинофанов (29а) и (29б). Для молекул пиримидинофанов этого типа характерна развернутая геометрия с удаленными друг от друга урациловыми фрагментами.

2.2 Структура пиримидинофанов в растворе

Расшифровка спектров ЯМР 1H и ^{13}C пиримидинофанов, содержащих один урациловый фрагмент была осуществлена на основании комплекса экспериментов 1D ROESY, 2D COSY, 2D TOCSY, 2D HSQC и 2D HMBC (рис. 1).

В спектрах ЯМР 1H однофрагментных пиримидинофанов с 10 метиленовыми группами в мостике наблюдаются характерные особенности. Резонансы протонов соединительного мостика образуют отдельно расположенные мультиплеты (рис. 1). Магнитная неэквивалентность этих протонов является следствием анизотропии

пиримидинового цикла, которая в свою очередь проявляется ввиду конформационной «жесткости» молекул пиримидинофанов данного типа.

Данные корреляционных экспериментов, а именно наличие в спектрах 2D NOESY и 1D ROESY (рис. 5) нетривиальных ядерных эффектов Оверхаузера (яэО)

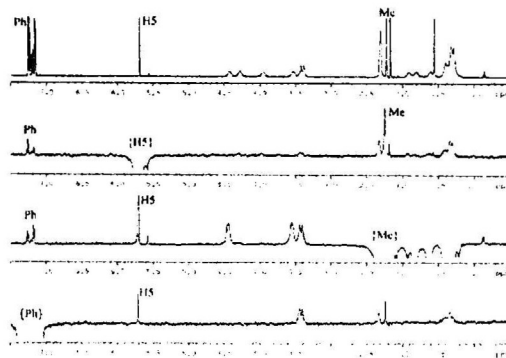


Рис. 5. Спектры ЯМР ^1H и 1D ROESY пиримидинофана (7a)

между C^5H , C^6CH_3 и сигналами фенильных протонов в макроцикле (7a), свидетельствуют о близком пространственном расположении протонов урацилового и фенильного фрагментов в растворе CDCl_3 , т.е. реализации некой «свернутой» конформации молекулы, сходной с геометрией макроцикла в кристалле. Это находит отражение и в значениях химсдвигов вышеуказанных протонов – они смещены в слабopольную область по сравнению с их положением в спектрах ЯМР ^1H исходных соединений.

Четким индикатором описанных выше структурных особенностей пиримидинофанов в растворе является неэквивалентность геминальных протонов метиленовых групп при N^1 и N^3 пиримидиновых циклов. Сигналы этих протонов в спектрах ЯМР ^1H пиримидинофанов располагаются в области 5.0-3.5 м.д. и отстоят друг от друга на 0.2-0.4 м.д. (рис. 1). Установлено, что такая структура сигналов наблюдается в спектрах ЯМР ^1H независимо от строения пиримидинового фрагмента и заместителя при мостиковом атоме N. В частности, при замене урацилового фрагмента на хиназолин-2,4-дион в спектрах ЯМР ^1H вышеописанные особенности сохраняются (рис. 6a). Подвижность (скорость инверсии) пиримидинофанов увеличивается при удлинении полиметиленовой цепочки, что сопровождается коллапсом сигналов геминальных протонов N^1CH_2 и N^3CH_2 в ^1H ЯМР спектрах этих макроциклов в CDCl_3 (рис. 6б). Отсутствие заметных яэО в 1D ROESY и 2D NOESY спектрах свидетельствует о реализации в растворе «развернутой» конформации с пространственно удален-

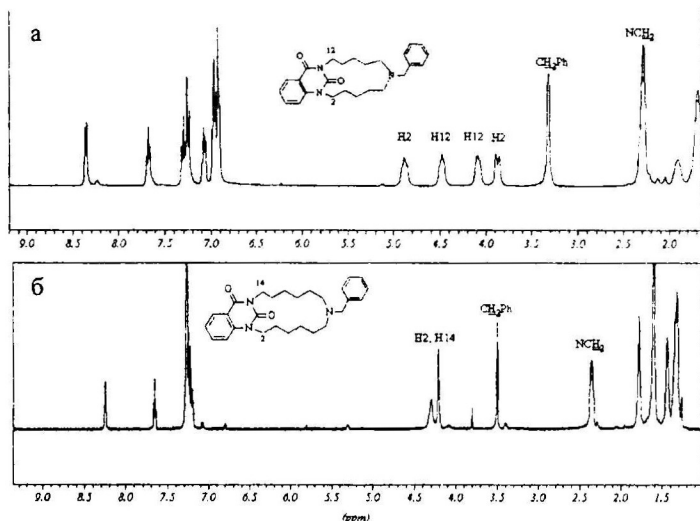


Рис. 6. Фрагмент ^1H ЯМР спектра в CDCl_3 макроцикла (а) (15а), (б) (16).

ными друг от друга пиримидиновым и бензильным фрагментами. Таким образом, в этом случае также имеет место корреляция между геометрией молекулы макроцикла в кристалле по данным РСА и ее состоянием в растворе по данным спектроскопии ЯМР.

Пиримидинофаны с атомами S в мостике сохраняют структурные особенности пиримидинофанов с мостиковыми атомами N, однако, в этом случае уширение и слияние сигналов $\text{N}_{\text{мр}}\text{CH}_2$ -групп происходит уже при длине мостика в 10 метиленовых цепочек, а не 12, как для пиримидинофанов с атомом N.

В спектрах ЯМР ^1H двухфрагментных изомерных пиримидинофанов (28а,б) и (29а,б) подобные спектральные особенности отсутствуют, что объясняется гораздо более подвижными соединительными цепочками. Различия в спектрах ЯМР ^1H пиримидинофанов с *транс*- и *цис*-расположением $\text{C}^4=\text{O}$ -групп очень незначительны. Пиримидинофаны (28а,б) и (29а,б) имеют в растворах развернутое строение, на это указывают данные УФ-спектроскопии – отсутствие гипохромного эффекта в спектрах поглощения водных растворов пиримидинофанов и их растворов в CHCl_3 .

Для определения в растворах структуры изомерных пиримидинофанов очень ценным оказался метод дипольных моментов (ДМ). Молекулярный ДМ изучаемых соединений зависит главным образом от взаимной ориентации проекций ДМ урациловых фрагментов. На основании графика зависимости ДМ от угла между урациловыми фрагментами (рис. 7) (0° – *цис*-расположение карбонильных групп в

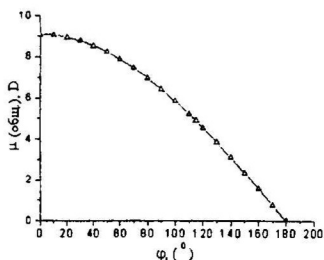


Рис. 7. Зависимость ДМ от угла между урациловыми фрагментами

карбонильных групп при различных пиримидиновых циклах.

одной плоскости, 180° – *транс*- расположение групп в одной плоскости) даже в отсутствии данных РСА можно однозначно приписать определенную структуру изомерному пиримидинофану по величине ДМ. Так, поскольку измеренный ДМ макроциклов (28а) и (29а) составляет всего 2.80 и 3.23 D, им была приписана структура *транс*-изомера, а макроциклам (28б) и (29б) на основании их значительно большего ДМ (8.96 и 9.69 D соответственно) была приписана структура изомера с *цис*- расположением

2.3 Факторы, определяющие конформационное состояние пиримидинофанов, содержащих один урациловый фрагмент

Сближенность фрагментов в составе [11]пиримидинофанов, по-видимому, объясняется стерическими требованиями замыкания пентаметиленовых цепочек в цикл. На это указывает отсутствие признаков нековалентных взаимодействий между сближенными фрагментами. Так, спектры ЯМР ^1H пиримидинофанов остаются неизменными при переходе от неполярных к полярным растворителям, что свидетельствует об отсутствии водородного связывания между фрагментами. Не приходится говорить и о π - π взаимодействиях в качестве фактора, стабилизирующего конформацию макроциклов, поскольку яэО наблюдаются как для пиримидинофанов с алкильным, так и с фенильным заместителем при мостиковом атоме азота. Фактором, определяющим конформационную лабильность цепочки, является ее длина. Длины цепочки с 10 метиленовыми группами достаточно, чтобы образовать макроцикл, но недостаточно для того, чтобы мостик был конформационно подвижен. Это подтверждается данными по макроциклам с атомами серы в мостиках. Радиус серы (1.84 Å) существенно больше, чем у азота (1.50 Å), таким образом подвижность мостика в [11]пиримидинофанах с атомом серы будет выше, что отчетливо проявляется в их спектрах ЯМР ^1H .

3. Реакционная способность пиримидинофанов

3.1 Основные свойства

3.1.1 Константы основности

Различия в конформационном состоянии в растворах пиримидинофанов с различным числом метиленовых групп в мостике отражаются и на их основных свойствах. Проведенные на основании данных рН-метрического титрования раствором HCl водно-этанольных растворов (20 об.% - 80 об.%) пиримидинофанов расчеты (программа CPESSP) дали следующие значения pK_a : для (6a) и (11) – 5.90 ± 0.08 и 7.07 ± 0.02 соответственно, для (15a) и (16) – 6.25 ± 0.02 и 7.33 ± 0.03 соответственно. Для триэтиламина значение pK_a , определенное в этих же условиях, составляет 8.61 ± 0.03 . Эти данные показывают, что с увеличением длины мостика основность мостикового атома азота увеличивается, но при этом остается меньшей, чем основность NEt_3 .

3.1.2 Изменение структуры при протонировании мостикового атома азота

При добавлении в раствор [11]пиримидинофанов различных органических и неорганических кислот уже при соотношении пиримидинофан - кислота 2:1 в спектрах ЯМР 1H смеси появляются четкие изменения, а именно уширение сигналов геминальных протонов при атомах азота пиримидинового цикла. При дальнейшем добавлении кислоты спектры ЯМР 1H пиримидинофанов с протонированным мостиковым атомом N представляют собой спектры в условиях быстрого обмена в шкале ЯМР. Причиной драматических изменений в спектрах, происходящих при протонировании пиримидинофанов, является увеличение подвижности соединительного мостика. Как следствие, геометрия макроциклов из «свернутой» переходит в «развернутую» с пространственно удаленными друг от друга заместителем при мостиковом атоме азота и урациловым фрагментом. Процессы протонирования обратимы: при добавлении в раствор смеси пиримидинофана и кислоты основания более сильного, чем пиримидинофан, спектр ЯМР 1H принимает исходный вид.

Напротив, спектры ЯМР 1H пиримидинофанов с 12 метиленовыми группами в мостике при добавлении кислоты претерпевают обратные изменения – спектры ЯМР 1H этих макроциклов в условиях быстрого обмена после протонирования мостикового атома N переходят в спектры в условиях медленного обмена, при этом

геминальные протоны групп $N_{\text{пир}}CH_2$ становятся магнитно неэквивалентными. При добавлении основания в раствор спектр ЯМР 1H принимает исходный вид.

Как уже упоминалось выше, все описанные превращения являются обратимыми, после трехкратного повторения цикла «протонирование-депротонирование» характерные особенности пиримидинофанов сохраняются.

3.2 Функционализация пиримидинофанов

Многочисленные попытки модификации однофрагментных пиримидинофанов с одним атомом N в мостике на основе литературных методик (снятие защиты с мостикового атома азота, удаление метильной группы с атома кислорода в пиримидинофане (8в), замена брома на этиламиногруппу в пиримидинофане (10), восстановление нитрогруппы в пиримидинофане (9) до аминогруппы, гидрирование двойной связи урацилового фрагмента в том же соединении, введение диазофрагментов в состав макроцикла (8е)) оказались неудачными, и даже кватернизация мостикового атома N протекала с большими сложностями. Нам удалось синтезировать с невысоким выходом макроцикл (40) кватернизацией пиримидинофана (66) с бутильным заместителем при атоме N *n*-децилбромидом (схема 19). Кватернизацию мостикового атома N пиримидинофана с бензильным заместителем удалось осуществить в жестких условиях метиловым эфиром *n*-толуолсульфокислоты, используя его и как реагент и как растворитель (схема 20).

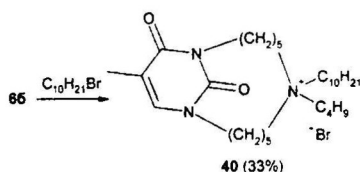


Схема 19

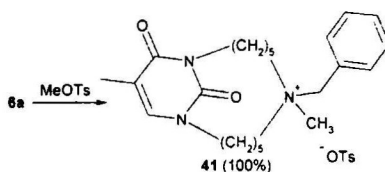


Схема 20

Причиной такого необычного поведения макроциклов, по-видимому, является малая стерическая доступность структурных фрагментов макроциклов вследствие их «свернутой» конформации.

Кватернизация более конформационно подвижных пиримидинофанов была осуществлена с высокими выходами 2-4-кратным избытком алкил- или бензилбромидов в CH_3CN при температуре кипения растворителя (схемы 21-23).

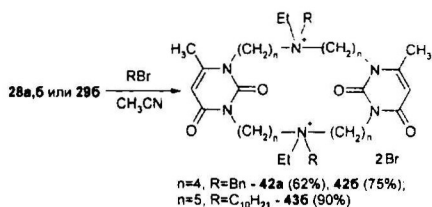


Схема 21

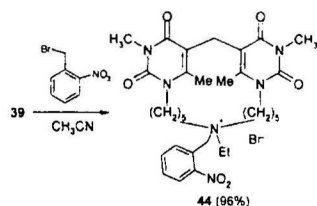


Схема 22

Окисление мостикового атома S макроциклов перекисью водорода в зависимости от условий приводит к сульфоксиду (**46a**) либо сульфону (**46б**) (схема 24).

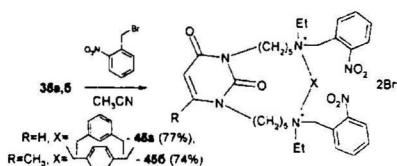


Схема 23

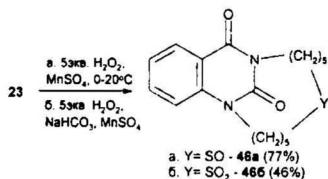


Схема 24

Мы провели аминирование мостикового атома серы в пиримидинофане (**22б**) взаимодействием с О-метилтенсульфонилгидроксиламином в CH_2Cl_2 с целью получения сульфимина, однако при попытке перевода соли (**47**) в свободное основание под действием DBU произошло разложение до исходного сульфида (**22б**) (схема 25).

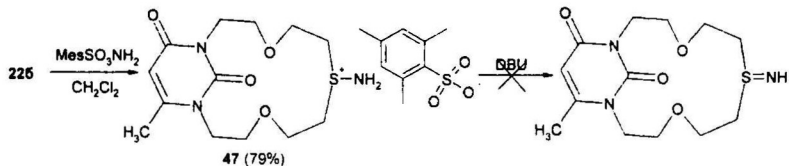


Схема 25

Так же как и для пиримидинофанов с мостиковыми атомами N мы попытались провести алкилирование атома S. Однако все попытки провести реакции макроциклических сульфидов с алкилгалогенидами окончились неудачей. Лишь при использовании значительного избытка алкилтозилата нам удалось получить макроциклы с сульфониевой группировкой в составе мостика (схемы 26-28).

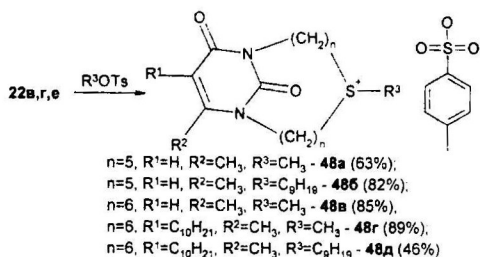


Схема 26

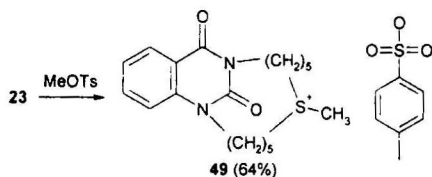


Схема 27

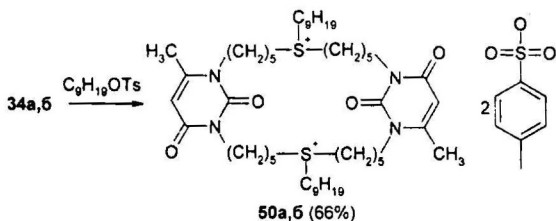


Схема 28

3.3 Биологическая активность пиримидинофанов

Анализ, проведенный в программе PASS, показал, что некоторые пиримидинофаны потенциально обладают широким спектром биологической активности, в том числе антибактериальной, противогрибковой, противоопухолевой, вероятно наличие действия против различных болезней сердца. Таким образом, исследования биологической активности пиримидинофанов представлялись перспективными.

Синтезированные соединения были исследованы *in vitro* на бактериостатическую и фунгистатическую активность по отношению к некоторым грам-отрицательным бактериям (*Pseudomonas aeruginosa* 9027, *Escherichia coli* F-50), грам-положительным бактериям (*Staphylococcus aureus* 209p, *Bacillus subtilis* 6633, *Bacillus cereus* 8035, *Enterococcus faecalis* ATCC 8043), патогенным грибам (*Aspergillus niger* ВКМФ-1119, *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum* 1773) и простейшим (*Candida albicans* 885-653) (табл. 1).

Таблица 1. Антибактериальная и противогрибковая активность пиримидинофанов

№ п/п	соединение	Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл								
		Sa	Ec	Bc	Pa	Ef	Tm	An	Ca	Bs
1	40	78	>1000	-	-	-	-	-	-	625
2	48a	50	>1000	150	>1000	>1000	100	250	100	-
3	48б	1000	>1000	>1000	>1000	>1000	500	1000	500	-
4	48г	0.75	190	2.9	500	250	50	100	50	-
5	48д	3	>1000	15	>1000	>1000	50	100	50	-
6	42a	312	-	-	-	-	-	-	-	625
7	42б	312	-	-	-	-	-	-	-	625
8	43б	0.98	62.5	-	>1000	500	125	250	250	7.8
9	50a,б	31	1000	62.5	>1000	500	625	>1000	625	-
10	ампициллин	0.13	3.13	-	-	-	-	-	-	625

Как видно, некоторые из синтезированных соединений демонстрируют активность на уровне используемого в медицинской практике препарата.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Разработаны методы синтеза пиримидинофанов, содержащих один или два урациловых фрагмента и гетероатомы в соединительных мостиках. В качестве исходных соединений использовались 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилы, которые были введены в реакции с аминами или сульфидом натрия с образованием [п](1,3)пиримидинофанов либо переведены в 1,3-бис(ω-алкиламиноалкил)урацилы, которые в результате циклизации с исходными 1,3-бис(ω-бромалкил)урацилами привели к [п.п](1,3)пиримидинофанами. При использовании моно(ω-бромалкил)урацилов были получены [п.п](1,5)пиримидинофаны. Варьируются производные урацила (5- и 6-замещенные урацилы, хиназолин-2,4-дион и его производные, аллоксазин), гетероатомы в составе соединительных мостиков, заместители при гетероатомах, длина соединительных мостиков. Проведена оптимизация условий получения макроциклов с целью повышения выходов и образования меньшего количества побочных продуктов. В состав макроциклов введены и другие гетероциклы (5-метилизотианурат), а также неароматические фрагменты (5,6-дигидро-6-метилурацил).

2. Синтезированы пиримидинофаны, содержащие в составе мостиков ониевые или сульфониевые группировки. Такие макроциклы обладают растворимостью в полярных растворителях и, в частности, в воде.

3. Установлено, что как в кристалле, так и в растворе [9]- и [11](1,3)пиримидинофаны находятся в конформации, характеризующейся сближенными урациловым фрагментом и заместителем при гетероатоме, а [13](1,3)пиримидинофаны – в конформации с удаленными друг от друга структурными фрагментами. Конформационные отличия [11]- и [13](1,3)пиримидинофанов отражаются на основности мостикового атома N – pK_a пиримидинофанов различны. Конформационные особенности [11](1,3)пиримидинофанов определяют их реакционную способность – пиримидинофаны практически не вступают в традиционные химические реакции.

4. На основании данных методов РСА и дипольных моментов изомерным пиримидинофанам, содержащим два урациловых фрагмента и атомы азота в мостиках и отличающимся друг от друга *цис*- и *транс*- расположением карбонильных групп при различных пиримидиновых кольцах, приписана определенная структура как в кристаллах, так и в растворах.

5. Выявлено влияние внешних воздействий на конформационное состояние макроциклов в растворе. Обнаружена зависимость конформационного состояния однофрагментных [11](1,3)пиримидинофанов от присутствия в растворе доноров протонов – органических и неорганических кислот. Показано, что протонирование мостикового атома N сопровождается структурными переходами, и эти переходы обратимы – при добавлении более сильного основания макроцикл возвращается в исходное состояние, что позволяет рассматривать эти системы в качестве моделей молекулярных переключателей.

6. В процессе исследования обнаружено, что в результате взаимодействия 1,3-бис(3-бромметилбензил)-5-бромурацила с *n*-метоксибензиламином происходит образование макроциклического соединения, в котором 5-бромурациловый фрагмент претерпел превращение в 5-гидроксигидантоиновый.

7. Пиримидинофаны с одним и двумя урациловыми фрагментами и ониевыми и сульфониевыми группировками в составе соединительных мостиков проявляют высокую антибактериальную и противогрибковую активность, сравнимую с эталонными препаратами.

Основное содержание диссертации опубликовано в следующих работах:

Статьи:

1. Nikolaev, A.E. Macrocyclic 5-bromouracil derivatives: synthesis and transformation of a uracil ring / A.E. Nikolaev, V.E. Semenov, D.R. Sharafutdinova, Yu.Ya. Efremov, V.S. Reznik // *Tetrahedron*. - 2008. - Vol. 49. - №41. - P.5994-5997.
2. Семенов, В.Э. Строение и свойства макроциклических структур, содержащих один пиримидиновый фрагмент / В.Э. Семенов, А.Е. Николаев, А.В. Козлов, С.Н. Подъячев, О.А. Лодочникова, О.Н. Катаева, Ш.К. Латыпов, В.С. Резник // *ЖОрХ*. - 2008. - Т. 44. - №6. - С.899-908.
3. Семенов, В.Э. Синтез пиримидиноциклофанов, содержащих атом азота в мостике / В.Э. Семенов, А.Е. Николаев, А.В. Козлов, Ю.Я. Ефремов, Ш.К. Латыпов, В.С. Резник // *ЖОрХ*. - 2008. - Т. 44. - №6. - С.890-898.
4. Semenov, V. Novel macrocyclic uracil derivatives: structure in solid and solution / V. Semenov, A. Gubaidullin, O. Kataeva, O. Lodochnikova, A. Timosheva, V. Kataev, R. Giniyatullin, A. Nikolaev, A. Chernova, R. Shagidullin, A. Nafikova, V. Reznik // *Struct. Chem.* - 2006. - Vol.17. - №4. - P.409-417.
5. Semenov, V.E. Antibacterial and antifungal activity of acyclic and macrocyclic uracil derivatives with quaternized nitrogen atoms in spacers / V.E. Semenov., A.D. Voloshina, E.M. Toroptzova, N.V. Kulik, V.V. Zobov, R.Kh. Giniyatullin, A.S. Mikhailov, A.E. Nikolaev, V.D. Akamsin, V.S. Reznik // *Eur. J. Med. Chem.* - 2006. - Vol. 41. - №9. - P.1093-1101.
6. Семенов, В.Э. Синтез и структура пиримидиноциклофанов с атомами азота в мостиках / В.Э. Семенов, А.Е. Николаев, Л.Ф. Галиуллина, О.А. Лодочникова, И.А. Литвинов, А.П. Тимошева, В.Е. Катаев, Д.Р. Шарафутдинова, Ю.Я. Ефремов, А.В. Чернова, Ш.К. Латыпов, В.С. Резник // *Изв. АН. Сер. хим.* - 2006. - №3. - С.539-547.
7. Galiullina, L. Structure of pyrimidinocyclophanes in solution by NMR / L. Galiullina, A. Nikolaev, V. Semenov, V. Reznik, Sh. Latypov // *Tetrahedron*. - 2006. - Vol. 62. - №29. - P.7021-7033.
8. Зобов, В.В. Миорелаксанта́ная активность ациклических и макроциклических производных урацила. В.В. Зобов, К.А. Петров, В.Э. Семенов, Р.Х. Гиниятуллин, А.Е. Николаев, В.Д. Акамсин, И.В. Галяметдинова, А.А. Нафикова, И.Е. Исмаев, В.Е. Катаев, Ш.К. Латыпов, В.С. Резник // *Современные проблемы токсикологии. (Modern problems of toxicology, Киев).* - 2006. - №2. - С.13-22.

Также опубликовано 26 тезисов докладов.

*Отпечатано в ООО «Печатный двор».
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межрегиональным
территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 11.11.2008г. Усл. п.л 1,5
Заказ № К-6598. Тираж 120 экз. Формат 60х84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.*

